

RISCO RELATIVO DA INFECÇÃO POR PARASITOS DO GÊNERO *Cryptosporidium* EM BEZERROS BOVINOS NO NORTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

ADRIANA JARDIM DE ALMEIDA¹; FRANCISCO CARLOS R. DE OLIVEIRA¹; CARINA DOS S. TEIXEIRA²

ABSTRACT:- ALMEIDA, A.J.DE; OLIVEIRA, F.C.R.DE; TEIXEIRA, C.S. [Relative risk of infection of parasites from genus *Cryptosporidium* in cattle in North of Rio de Janeiro State, Brazil]. Risco relativo da infecção por parasitos do gênero *Cryptosporidium* em bezerros no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.17, supl. 1, p. 243-248, 2008. Laboratório de Sanidade Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brazil. E-mail: jardim@uenf.br

The aim of the study was to detect *Cryptosporidium* oocysts in calves' feces throughout North of Rio de Janeiro State, Brazil, as well as to examine the risk factors involved in the animal's infection. One hundred young calves on 13 dairy farms were analyzed for oocyst excretion. The samples were submitted to Ritchie and Ziehl-Neelsen modified tests, and the observation of the oocysts was made by using the optical microscope. The results obtained showed that *Cryptosporidium* was detected in 61% of the animals. Statistical analysis of the risk factors revealed that only three of them demonstrated a significant influence for infection: Animals bred under technical systems such as the use of milking equipment, milking cooler and farms that have water trough were more likely to be infected with the protozoan.

KEY WORDS: Criptosporidiosis, bovine, protozoan, risk factors.

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi detectar oocistos do gênero *Cryptosporidium* em fezes de bezerros bovinos assim como analisar os prováveis fatores de riscos envolvidos na infecção por esse protozoário. Foram coletadas 100 amostras de fezes de bezerros bovinos. O material foi submetido às técnicas de Ritchie e de Ziehl-Neelsen modificadas e as lâminas foram observadas ao microscópio ótico para a verificação da presença dos parasitos. Os resultados demonstraram 61% de positividade nos animais examinados, e a análise estatística dos fatores de risco revelou que animais criados em propriedades tecnificadas que utilizam ordenha mecanizada e resfriamento de leite e bezerros criados em locais que possuam bebedouro também apresentaram risco relativo de infecção pelo parasito.

PALAVRAS-CHAVE: Criptosporidiose, bovino, protozoário, fatores de risco.

INTRODUÇÃO

Parasitas do gênero *Cryptosporidium* são protozoários que possuem grande capacidade de reprodução e disseminação (GRAAF et al., 1999). A transmissão pode ocorrer diretamente entre animais, entre humanos, de animais para humanos, ou indiretamente através da ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos viáveis, que são eliminados pelas fezes (FAYER et al., 2000). Alguns animais podem eliminar milhões de oocistos esporulados em um grama de fezes, contaminando o ambiente (DUBEY; FAYER, 1982). Bovinos de corte e leiteiros, em particular bezerros são considerados importantes reservatórios de oocistos, devido ao grande número de animais, distribuição, incidência de infecção e ao elevado número de oocistos por eles excretados (KUCZYNSKA; SHELTON, 1999).

A criptosporidiose em humanos é capaz de causar diarreia persistente, febre, dor abdominal, com possível envolvimento da traquéia e brônquios, sendo um problema severo nos países em desenvolvimento (RIBEIRO et al., 2004) e tendo prognóstico desfavorável (BRAZ et al., 1996). Os sinais clínicos mais severos têm sido associados a pessoas e animais comprometidos imunologicamente, incluindo indivíduos portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Laboratório de Sanidade Animal. Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brasil. E-mail: jardim@uenf.br

² Curso de Graduação em Medicina Veterinária, CCTA, UENF.

ou portadores de outras viroses, mal nutridos, consumidores de medicamentos imunossupressores e provavelmente fêmeas prenhes (UNGAR et al. citados por Fayer et al., 1998).

Pesquisas apontam para a gravidade do problema no Brasil, onde o gênero *Cryptosporidium* é indicado como um dos três principais agentes de diarreia infecciosa que constitui causa de morbidade e de mortalidade em crianças com faixa etária de menos de cinco anos de idade (OSHIRO et al., 2000; GATEI et al., 2003). A ausência tratamento disponível totalmente eficaz contra a criptosporidiose faz com que medidas profiláticas se tornem essenciais no combate à doença (HEIGES et al., 2006).

Esse trabalho teve como objetivo a verificação da ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em bezerros bovinos com idades entre um e 12 meses, no Norte do estado do Rio de Janeiro, assim como determinar os possíveis fatores de risco da infecção nestes animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de material

Foram selecionadas por conveniência, 13 propriedades de bovinos de corte e leiteiros do Município de Campos dos Goytacazes localizadas na Região Norte Fluminense. As propriedades selecionadas foram classificadas de acordo com o tipo de manejo e produção em Familiar ou Pré-empresarial, de acordo com Astudillo et al. (1990).

Também por conveniência, foram coletadas 100 amostras de fezes, utilizando-se sacos plásticos, diretamente da ampola retal de bezerros (50 machos e 50 fêmeas) de até 12 meses de idade. As amostras foram identificadas individualmente e encaminhadas ao Setor de Clínica Médica dos Grandes Animais Domésticos do Laboratório de Sanidade Animal, do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte

Fluminense Darcy Ribeiro. Os proprietários e/ou responsáveis pelas propriedades foram entrevistados através de questionários, com intuito de se avaliar o tipo de produção e criação, manejo, tamanho da propriedade e a presença de enfermidades.

Análise laboratorial

As fezes coletadas foram submetidas à Técnica de Ritchie (1948) modificada por Allen e Ridley (1970), como a seguir. Um grama de cada amostra de fezes foi fixado em solução de formol a 10% em 10 vezes o volume, após passagem em camada dupla de gaze. Eram recuperados cerca de 7 mL de cada solução e transferidas para tubos cônicos individuais de 15 mL, onde eram adicionados 4mL de éter etílico. Cada solução foi homogeneizada em agitador de tubos, os quais foram centrifugados a 500g por 10 minutos. Após descarte do sobrenadante, foram feitos esfregaços em lâminas de vidro a partir dos sedimentos restantes. As lâminas foram coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada (HENRIKSEN E POHLLENZ, 1981), e observadas ao microscópio ótico, em objetiva de 100X sob imersão.

Análise estatística

As medidas médias e os índices morfométricos dos oocistos foram submetidos à análise descritiva e submetidos ao Teste *t* de Student. Para verificar a associação entre as variáveis e os fatores de risco foram utilizados o teste estatístico do Qui-quadrado (χ^2) e o Teste de Fisher (Fisher Exact Test), com correção de Yates e intervalo de confiança de 95% utilizando-se o programa SAS (1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diagnóstico e ocorrência

Foram identificados oocistos do gênero *Cryptosporidium* nas fezes de 61% dos bezerros bovinos (Figura 1). Os resulta-

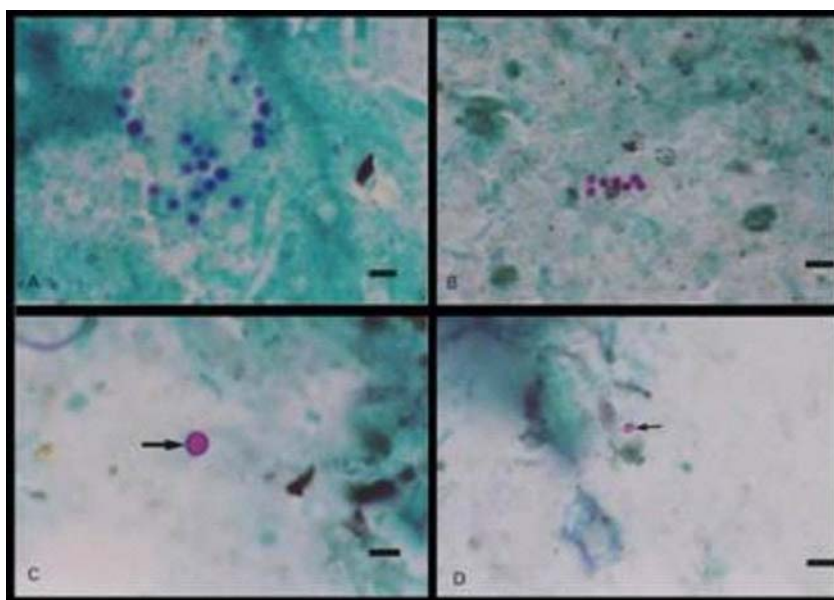


Figura 1. Oocistos do gênero *Cryptosporidium* observados em fezes de bezerros bovinos. Em A, bezerro com sintomas clínicos de diarreia, desidratação e apatia. Observar infecção caracterizada por oocistos de diferentes tamanhos. Em B, pequenos oocistos em fezes de bezerro em bom estado de saúde e sem sinais clínicos de criptosporidiose. Em C e D detalhe da parede dos oocistos. Técnica de Ziehl-Neelsen modificada (—= 5mm).

Tabela 1. Prevalência da presença de oocistos de *Cryptosporidium* em fezes de bezerros bovinos analisadas pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada em animais criados no município de Campos dos Goytacazes, RJ.

Propriedade	Amostras		Total
	Positivo	Negativo	
01	01	06	07
02	01	-	01
03	08	03	11
04	02	05	07
05	03	04	07
06	04	05	09
07	03	03	06
08	06	02	08
09	07	02	09
10	04	03	07
11	06	02	08
12	09	-	09
13	07	04	11
Total	61	39	100

Tabela 2. Medidas em micrômetros de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em fezes de bezerros bovinos corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada e observados ao microscópio ótico.

Parâmetros aferidos	Medidas (μm)	
	Média e desvio padrão	Variação
Diâmetro maior	2,55 ± 1,94	12,00 a 2,00
Diâmetro menor	2,06 1,25	7,50 a 1,00
Índice morfométrico	1,21 ± 1,15	1,79 a 1,00

dos do diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. em relação às propriedades visitadas e as medidas dos oocistos em micrômetros podem ser observados nas Tabelas 1 e 2 respectivamente.

Segundo Park et al. (2006), as espécies *C. parvum* e *C. hominis* possuem formato esférico e medidas que variam entre 4 e 6 μm. Ramirez et al. (2004), citam que parasitos do gênero *Cryptosporidium* apresentam medidas entre 3 e 6 μm de diâmetro. Em um estudo realizado com *C. andersoni*, Enemark et al. (2002) relataram que as medidas dos oocistos dessa espécie variaram entre 7,3 (6,5-8,0) e 5,7 (5,0-7,0) μm. Nesse trabalho de pesquisa, o diâmetro maior encontrado teve como valor máximo 12,0 μm e como valor mínimo, 2,00 μm. Os valores próximos a 3,00 μm, aliados ao índice morfométrico próximo de 1,00 são compatíveis com a espécie *C. parvum*, devido não somente ao tamanho, mas também ao formato esférico dos oocistos dessa espécie. Por outro lado, os valores próximos a 7,00 μm com índices morfométricos distantes de 1,00 indicam a presença de outra espécie, já que estas medidas aliadas ao formato oval do oocisto são incompatíveis à espécie *C. parvum*. As medidas dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. evidenciam tamanhos e formatos variados, o que sugere a existência de mais de uma espécie de *Cryptosporidium* circulante nos bezerros bovinos dessa pesquisa.

Esse estudo revelou que todas as 13 propriedades analisadas apresentaram ao menos um bezerro infectado pelo parasito.

Da mesma forma, em uma pesquisa desenvolvida na Austrália, Becher et al. (2004), também verificaram positividade de 100% das propriedades analisadas para *Cryptosporidium* spp. Em Campos dos Goytacazes, um estudo anterior revelou que em 96% das propriedades, protozoários desse gênero foram observados (EDERLI, 2004). Com relação à porcentagem de bezerros infectados (61% nesse trabalho de pesquisa), esse valor está de acordo com Ferreira e Borges (2002), que citam a existência de 60% de prevalência de infecção por parasitos desse gênero em países Latino-Americanos. Prevalência de 82,54% foi observada por Souza e Lopes (1995), no Rio de Janeiro, que apesar de mais alta em relação aos 61% observados nesse trabalho, parece estar dentro da realidade da região onde se verifica que fatores relacionados às características gerais das propriedades e às condições de alojamento dos bezerros podem interferir nos resultados.

Fatores de risco

Em relação ao tamanho das fazendas, constata-se que propriedades com mais de 100 hectares apresentaram maior índice de positividade para o gênero *Cryptosporidium* e consequentemente maior risco de criptosporidiose nos bezerros (Tabela 3), o que está de acordo com Causapé et al. (2002), que relatam que houve maior risco de infecção por *Cryptosporidium* spp. em fazendas de maior tamanho.

Surpreendentemente, observou-se nessa pesquisa que bezerros criados em propriedades com ordenha mecanizada apresentaram maior probabilidade de infecção por *Cryptosporidium* spp. (Tabela 3), corroborando com os resultados de Munhoz (2004), que trabalhando com diagnóstico de *Neospora caninum* em vacas, obteve maior probabilidade de infecção em animais ordenhados mecanicamente, provavelmente devido ao maior esgotamento fisiológico e estresse sofridos pelas vacas ordenhadas por este método, as quais poderiam estar eliminando maiores quantidades de oocistos por estes motivos e consequentemente, se tornando fontes de infecção mais importantes do que aquelas ordenhadas manualmente.

A presença de reservatório artificial de água disponível para os animais (bebedouro) foi um fator de risco significativo para a presença de *Cryptosporidium* spp. em fezes de bezerros (Tabela 3). Munhoz (2004) encontrou a mesma diferença quando associou a presença de bebedouro à infecção por *N. caninum* em bovinos. Uma consideração importante é que o bebedouro pode estar sendo um reservatório de oocistos, que permaneceriam viáveis por um longo período. Os reservatórios de água podem estar recebendo contaminação fecal e inclusive nasal com oocistos desse protozoário.

O índice de bezerros positivos para *Cryptosporidium* spp. foi significativamente maior em propriedades que possuem sistema de refrigeração de leite em comparação àquelas que não possuem tal sistema (Tabela 3), de acordo com os achados de Feitosa et al. (2004). Esses dados acompanham os resultados apresentados na Tabela 3 do presente trabalho, a qual evidencia que, quanto mais tecnificadas as propriedades, maior a probabilidade de infecção por esse parasito, reforçando a

Tabela 3. Risco relativo da presença de *Cryptosporidium* spp. em fezes de bezerros bovinos criados no município de Campos dos Goytacazes, RJ.

Variáveis	Propriedades			χ^2	Valor de P ^a	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) ^b
	Positiva	Negativa	Total				
Até 100 Hectare	27	34	61	-	0,0039 ^a	0,6239	0,4552 a 0,8552 ^b
> 100 Hectare	29	10	39				
Total	56	44	100				
Ordenha Manual	28	28	56	-	0,0135 ^a	1,500	1,097 a 2,051
Ordenha Mecânica	33	11	44				
Total	61	39	100				
Com Bebedouro	43	18	61	4,915 ^c	0,0262	1,527	1,049 a 2,224
Sem Bebedouro	18	21	39				
Total	61	39	100				
Tanque Refrigerado	39	15	54	6,242 ^c	0,0225 ^a	1,582	1,108 a 2,259 ^b
Tangues Comuns	21	25	46				
Total	60	40	100				

^a Para o Teste de Fisher.

^b Com aproximação de Katz.

^c Com correção de Yates

hipótese de queda imunológica devido a maior exigência dos animais em sistemas de criação pré-empresariais em relação ao manejo empregado nas criações familiares.

Dentre os fatores analisados, alguns não exerceram influência significativa para a infecção dos animais, como o sexo, o material utilizado para a construção dos alojamentos, o tipo de criação (intensivo ou semi-intensivo; familiar ou pré-empresarial), condições de higiene e tratamento dos animais.

O sexo (prevalência de 56% de machos e 66% de fêmeas), não exerceu influência sobre o índice de infecção por protozoários deste gênero ($\chi^2 = 0,6726$ [correção de Yates], $p = 0,4122$, $Rr = 0,8485$ e CI 95% $[0,6185 > Rr < 1,164]$), estando de acordo com Muller (1999), Tarazona et al. (1998) e Lallo e Bondan (2006), que citam que a infecção por *Cryptosporidium* ocorre em indivíduos independentemente do sexo.

Comparando-se a utilização de madeira (prevalência de 18%) ou alvenaria (prevalência de 43%), para a construção dos alojamentos dos animais, não foi encontrada diferença significativa ($\chi^2 = 0,9399$ [correção de Yates], $p = 0,3323$, $Rr = 0,8126$ e CI 95% $[0,5653 > Rr < 1,168]$, com aproximação de Katz), corroborando com os achados de Santín et al. (2004), que citam que o tipo de construção utilizada para abrigar bezerros não exerceu influência para a prevalência de *Cryptosporidium* spp. e de *Giardia* sp. nesses animais.

Em estudo conduzido nos EUA, Mohammed et al. (1999) relatam que bezerros criados em sistema extensivo possuíam cinco vezes menos chances de infecção por *Cryptosporidium* do que aqueles criados em confinamento. Em contrapartida,

Castro-Hermida et al. (2002) não encontraram efeitos significativos para a infecção por *C. parvum* em animais criados em regime intensivo e semi-intensivo. Através dos dados dessa pesquisa não se observou diferença significativa ($p = 0,6536$ [Teste de Fisher], $Rr = 0,9029$. CI 95%: $0,6509 > Rr < 1,253$) entre os sistemas de criações extensivo (prevalência 42%) e semi-intensivo (prevalência de 29%), não havendo propriedade que utilizasse o sistema intensivo para a criação dos animais no presente estudo. Garcia e Lima (1994), também relatam que não houve efeito significativo entre diferentes sistemas de criação e positividade para *Cryptosporidium* spp. em estudo conduzido em Minas Gerais.

Também não foi observada diferença significativa ($\chi^2 = 2,598$ [correção de Yates], $p = 0,1070$, $Rr = 0,7483$ e CI 95% $[0,5504 > Rr < 1,017]$, com aproximação de Katz) entre a positividade dos animais criados em sistema de produção familiar (prevalência 31%) ou pré-empresarial (prevalência 30%). Em pesquisa realizada no estado de São Paulo, Feitosa et al. (2004) relatam que animais criados em propriedades com melhores condições de manejo foram mais propícios à infecção por esse protozoário do que bezerros criados em condições de manejo precárias. Estes dados podem sugerir que os sistemas classificados como empresarial e pré-empresarial tenham métodos de manejo que exigem demais dos animais, que provavelmente chegam ao limite fisiológico de produção, o que corrobora com Wouda et al. (1999). Esse fator pode acarretar estresse metabólico e maior eliminação dos oocistos por animais adultos, e conseqüente contaminação dos bezerros.

Também não foram observadas diferenças significativas ($\chi^2 = 2,664$ [correção de Yates], $p = 0,1026$, $Rr = 1,367$ e CI 95% $[0,9586 > Rr < 1,948]$, com aproximação de Katz) entre criações com condições de higiene consideradas boas (prevalência 41%) e em outras cujas condições de higiene foram consideradas ruins (prevalência 20%). Dentre as 13 propriedades visitadas, nenhuma apresentou excelentes condições de higiene. Da mesma maneira, Maldonado-Camargo et al. (1998), no México, não observaram diferenças significativas entre a eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e as práticas higiênicas tais como: lavagem, troca das camas e medidas de desinfecção dos alojamentos no momento da troca de bezerros, assim como Maddox-Hyttel et al. (2006), não encontraram diferenças significativas entre maternidades de suínos que utilizavam medidas de higiene tais como utilização de jatos de água de alta pressão, desinfetantes e secagem das baias e maternidades que não utilizavam tais práticas. Curiosamente, observa-se, portanto que, provavelmente, a higiene dos alojamentos não tenha exercido influência na infecção de animais por protozoários do gênero *Cryptosporidium* nestes trabalhos.

CONCLUSÕES

Existe alta prevalência de infecções por protozoários do gênero *Cryptosporidium* em bezerros criados no Município de Campos dos Goytacazes, RJ indicando que a criptosporidiose ocorre de maneira endêmica nos rebanhos. Os resulta-

dos da morfometria dos oocistos indicam a possível existência de mais de uma espécie *Cryptosporidium* circulando entre os bezerros examinados e bezerros bovinos criados em propriedades tecnificadas que utilizam ordenha mecânica, resfriamento de leite e reservatórios de água apresentaram maior risco de infecção do que aquelas fazendas cujo sistema de produção foi classificado como familiar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, A.V.H.; RIDLEY, D.S. Further observations on the formol ether concentration technique parasites. *Journal of Clinical Pathology*, v. 23, n. 6, p. 545-546, 1970.
- ASTUDILLO, V.; ROSENBERG, F. J.; ZOTTELE, A.; OLASCOAGA, R. C. Considerações sobre a saúde animal na América Latina. *A Hora Veterinária*, v. 54, n. 2, p. 37-43, 1990.
- BECHER, K.A.; ROBERTSON, I.D.; FRASER, D.M.; PALMER, D.G.; THOMPSON, R.C.A. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Veterinary Parasitology*, v. 123, n. 1-2, p. 1-9, 2004.
- BRAZ, L.M.A.; NETO, V.A.; FERRARI, C.I.L.; PALHARES, M.C.A.; AMATO, V.S.; SANTOS, M.T.F.; MARQUES, H.H.S.; VALLADA, M.; NAKANISHI, L.S.S.; JÚNIOR, H.F.A. Human cryptosporidiosis: detection of specific antibodies in the serum by an indirect immunofluorescence. *Revista saúde pública*, v. 30, n. 5, p. 395-402, 1996.
- CASTRO-HERMIDA, J.A.; GONZÁLEZ-LOSADA, Y.A.; ARES-MAZÁS, E. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 106, n. 1, p. 1-10, 2002.
- CAUSAPÉ, A.C.; QUÍLEZ, J.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; DEL CACHO, E.; LÓPEZ-BERNARD, F. Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeasten Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 104, n. 4, p. 287-298, 2002.
- DUBEY, J.P.; FAYER, R. Sarcocystosis, Toxoplasmosis and Cryptosporidiosis in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 2, n. 2, p. 293-298, 1982.
- EDERLI, B.B. Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* spp. em bezerros da Microrregião de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida*, v. 13, n. 2, p. 45-48, 2004.
- ENEMARK, H.L.; AHRENS, P.; LOWERY, C.J.; THAMSBORG, S.M.; ENEMARK, J.M.D.; BILLE-HANSEN, V.; LIND, P. *Cryptosporidium andersoni* from a Danish cattle herd: identification and preliminary characterization. *Veterinary Parasitology*, v. 107, n. 1-2, p. 37-49, 2002.
- FAYER, R.; GASBARRE, L.; PASQUALI, P.; CANALS, A.; ALMERIA, S.; ZARLENGA, D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*, v. 28, n. 1, p. 49-56, 1998.
- FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.
- FEITOSA, F.L.F.; SHIMAMURA, G.M.; ROBERTO, T.; MEIRELES, M.V.; NUNES, C.M.; CIARLINI, P.C.; BORGES, A.S. Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 189-193, 2004.
- FERREIRA, M.S.; BORGES, A.S. Some aspects of protozoan infections in immunocompromised patients – A review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 4, p. 443-457, 2002.
- GARCIA, A.M.; LIMA, J.D. Prevalência de *Cryptosporidium* spp. em Rebanhos leiteiros de Pará de Minas (MG) e sua relação com práticas de manejo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 3, n. 3, p. 23-28, 1994.
- GATEI, W.; GREENSILL, J.; ASHFORD, R.W.; CUEVAS, L.E.; PARRY, C.M.; CUNLIFFE, N.A.; BEECHING, N.J.; HART, C.A. Molecular analysis of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* parasites from patients with or without human immunodeficiency virus infections living in Kenya, Malawi, Brazil, the United Kingdom, and Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 4, p. 1458-1462, 2003.
- GRAAF, D.C.; VANOPDENBOSCH, E.; ORTEGA-MORA, L.M.; ABBASSI, H.; PEETERS, J.E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1269-1287, 1999.
- HEIGES, M.; WANG, H.; ROBINSON, E.; AURRE-COECHEA, C.; GAO, X.; KALUSKAR, N.; RHODES, P.; WANG, S.; HE, C.; SU, Y.; MILLER, J.; KRAEMER, E.; KISSINGER, J.C. CryptoDB: a *Cryptosporidium* bioinformatics resource update. *Nucleic Acids Research*, v. 34, n. 1, p. 419-422, 2006.
- HENRIKSEN, S.A.; POHLENZ, J.F.L. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 22, n. 3-4, p. 594-596, 1981.
- KUCZYNSKA, E.; SHELTON, D.R. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures and soils. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, n. 7, p. 2820-2826, 1999.
- LALLO, M.A.; BONDAN, E.F. Prevalência de *Cryptosporidium* spp. em cães de instituições da cidade de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*, v. 40, n. 1, p. 120-125, 2006.
- MADDOX-HYTTEL, C.; LANGKJÆR; ENEMARK, H.L.; VIGRE, H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs – Occurrence and management associated risk factors. *Veterinary Parasitology*, v. 141, n. 1-2, p. 48-59, 2006.
- MALDONADO-CAMARGO, S.; ATWILL, E.R.; SALTIERAL-OAXACA, J.A.; HERRERA-ALONSO, L.C. Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryp-*

- cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central México. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 36, n.1, p. 95-107, 1998.
- MOHAMMED, H.O.; WADE, S.E.; SCHAAF, S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* in dairy cattle in southeastern New York State. *Veterinary Parasitology*, v. 83, n. 1, p. 1-13, 1999.
- MULLER, A.P.B. *Detecção de oocistos de Cryptosporidium spp. em águas de abastecimento superficiais e tratadas na região metropolitana de São Paulo*. 1999. 113p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- MUNHOZ, A.D. *Uma análise descritiva da Neosporose em vacas leiteiras dos Municípios de Rio Claro e Resende, no Estado do Rio de Janeiro*. 2004. 102p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.
- OSHIRO, E.T.; DORVAL, M.E.C.; NUNES, V.L.B.; SILVA, M.A.A.; SAID, L.A.M. Prevalência do *Cryptosporidium parvum* em crianças abaixo de 5 anos, residentes na zona urbana de Campo Grande, MS, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, n. 3, p. 277-280, 2000.
- PARK, J.; GUK, S.; HAN, E.; SHIN, E.; KIM, J.; CHAI, J. Genotype analysis of *Cryptosporidium* spp. Prevalent in a rural village in Hwasun-gun, Republic of Korea. *Korean Journal of Parasitology*, v. 44, n. 1, p. 23-33, 2006.
- RAMIREZ, N.E.; WARD, L.A.; SREEVATSAN, S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and infection*, v. 6, n. 8, p. 773-785, 2004.
- RIBEIRO, P.C.; PILE, E.; QUEIROZ, M.M.C.; NORBERG, A.N.; TENÓRIO, J.R.O. Cryptosporidiosis occurrence in HIV + patients attended in a hospital, Brazil. *Revista Saúde Pública*, v. 38, n. 3, p. 469-470, 2004.
- RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull U. S. Army. Med. Dept.* v. 8, p. 3-6, 1948.
- SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; XIAO, L.; GREINER, E.; FAYER, R. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology*, v. 122, n. 2, p. 103-117, 2004.
- S.A.S User's Guide Statistics, inst., inc., Cary, NC, 1998.
- SOUZA, J.C.P.; LOPES, C.W.G. Criptosporidiose em bezerros de rebanhos da bacia leiteira Sul-Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 4, n. 1, p. 33-36, 1995.
- TARAZONA, R.; BLEWETT, D.A.; CARMONA, M.D. *Cryptosporidium parvum* in infection in experimentally infected mice: infection dynamics and effect of immunosuppression. *Folia Parasitologica*, v. 45, n. 2, p. 101-107, 1998.
- WOUDA, W.; BARTELS, C.J.M.; DE MOEN, A.R. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995-1997). *Theriogenology*, v. 52, n. 2, p. 233-245, 1999.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.